

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Шмарова Максима Михайловича на диссертацию Спрыгина Александра Владимировича «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации», представленной к защите в диссертационный совет 36.1.002.01 при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 «Вирусология»

Актуальность темы. Каприпоксвирусные инфекции жвачных признаны особо опасными заболеваниями крупного и мелкого рогатого скота, возбудители которых принадлежат к р.*Capripoxvirus*, сем. *Poxviridae*. Геном представлен дцДНК длиной около 150 тыс п.н. Будучи ограниченные Африканским континентом в прошлом, каприпоксвирусы в настоящее время представляют угрозу животноводству в мире, включая РФ.

В последние десятилетия в нашей стране активно увеличивается поголовье сельскохозяйственных животных, однако это создает риски распространения инфекционных заболеваний, среди которых эмерджентные и трансграничные заболевания являются наиболее актуальными для ветеринарной службы.

Заразный узелковый дерматит (ЗУД) КРС относится к категории особо опасных трансмиссивных болезней животных, подлежащих обязательной нотификации в международное эпизоотическое бюро (МЭБ). Возбудитель способен наносить огромный экономический ущерб животноводству из-за затрат на лечение и ограничительных карантинных мер, которые предусматривают запреты на торговлю продукцией и животными.

В 2015-2016 году ЗУД КРС впервые выявлен в регионах Северо-Кавказского и Южного федеральных округов РФ: на территории страны было отмечено более 313 случаев заболевания. В 2017 г. нотифицировано еще 43 вспышки в 6 субъектах РФ. В последующие года ЗУД КРС продолжал распространяться в направлении Дальнего Востока РФ, где и был выявлен в 2020 г.

Риски дальнейшего ухудшения эпизоотической ситуации по ЗУД КРС подчеркивают необходимость решения вопросов, связанных с диагностикой и исследованием возбудителя, в отношении которого нет достаточно информации в международной литературе, что значительным образом сдерживает

разработку эффективных стратегий контроля. В контексте вышеизложенного, приоритетным направлением в ветеринарной области является лабораторный контроль ЗУД КРС.

Решению данной проблемы национальной значимости посвящена диссертационная работа Спрыгина Александра Владимировича по разработке комплекса методов идентификации и дифференциации геномов возбудителя ЗУД КРС, выяснению филогенетических связей изолятов вируса ЗУД КРС, циркулирующего в РФ с 2015 года, и изучению потенциальных переносчиков вируса в различных географических и климатических условиях РФ очевидна.

Цель и задачи исследования. Цель диссертационной работы Спрыгина АВ - это разработка и внедрение в практику комплекса методов идентификации и дифференциации возбудителя ЗУД КРС, установление филогенетических связей изолятов вируса ЗУД КРС из разных регионов России в период с 2015 по 2018 гг., а также скрининг насекомых-переносчиков, отловленных на вспышках, на наличие ДНК вируса.

Достижение цели осуществлялось посредством решения следующих задач:

- создание скрининговой тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома каприпоксвирусов;
- разработка тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома вируса ЗУД КРС;
- разработка тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома полевых изолятов вируса ЗУД КРС;
- разработатка тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома вакцинных штаммов типа вируса ЗУД КРС типа Neethling;
- осуществление филогенетического анализа выявленных изолятов вируса ЗУД КРС, циркулирующего в РФ в период с 2015 по 2018 гг.;
- проведение энтомологических исследований и апробация разработанных тест-систем на насекомых, собранных во время вспышек ЗУД КРС.

Научная новизна исследований заключается в том, что соискатель впервые в России создал диагностические инструменты молекулярной диагностики на основе ПЦР-РВ для лабораторных исследований на каприпоксвирусные инфекции с возможностью дифференциации вакцинных и полевых изолятов вируса ЗУД КРС. Соискателем апробированы тест-системы

на большой объеме материалов, включая насекомых. Новизна тест-систем подтверждена патентами РФ на изобретения.

Впервые в РФ изучена и опубликована полная геномная последовательность изолята Dagestan/2015 ЗУД КРС, который был зарегистрирован на территории РФ в 2015.

Впервые выявлен изолят, который является результатом рекомбинации в естественных условиях между вакцинным и полевым вирусом ЗУД КРС.

При изучении молекулярно-биологические свойства изолятов вируса ЗУД КРС, выявленных на территории РФ в 2015-2018 гг. на основе локусов RPO30 и GPCR, было показано, что в 2015 г. и 2016 г. на территории РФ все вспышки были вызваны полевыми изолятами вируса ЗУД КРС, тогда как с 2017 г. начали регистрироваться вакциноподобные изоляты вируса ЗУД КРС, а в 2018 г. во всех исследованных вспышках регистрировали только рекомбинантные вакциноподобные изоляты.

Изучена активность мокрецов р.Culicoides в трех климатически различных регионах РФ с помощью световой ловушки.

Впервые в мире установлено, что синантропная муха *Musca domestica* может быть контаминирована вирусной ДНК. Также выявлено, что слепни могут быть носителями вирусной ДНК.

По результатам исследований соискателем в соавторстве оформлено и получено 4 патента РФ на изобретения.

Оценка содержания диссертации и её оформления. В ходе выполнения научных исследований автором применялись молекулярно-биологические, биоинформатические, энтомологические и статистические методы.

Диссертация Спрыгина А.В. выполнена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11 – 2011. Автором соблюдены основные требования ВАК Минобрнауки России, предъявляемые к структуре диссертаций. Диссертация написана грамотно, изложена доступным научным языком с использованием специфических научных терминов на 347 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, итоги выполненного исследования, практические предложения, список использованных источников и приложения. Диссертация иллюстрирована 41 таблицей и 70 рисунками. Список использованной литературы включает 295 источников, из которых 58 на русском языке. В приложении представлены

копии титульных листов документов, подтверждающих достоверность результатов работы, её научную новизну и практическую значимость.

В разделе «Введение» соискатель обосновывает актуальность выбранной темы исследования, приводит ссылки авторов для иллюстрации её разработанности, ставит цели и задачи исследований, формулирует её научную новизну, теоретическую и практическую значимость результатов исследований, излагает методологию и методы исследования, выдвигает основные положения диссертационной работы, выносимые на защиту, подтверждает личный вклад, доказывает степень достоверности результатов.

В обзоре литературы на основании большого количества материалов отечественных и зарубежных исследователей проведен глубокий анализ географического распространения каприпоксвирусов, в том числе в РФ, ситуации по болезням вызываемым ими и данные по экономическому ущербу в различных регионах мира, охарактеризованы строение и морфология, приведен обзор методов лабораторной диагностики ЗУД КРС и энтомологической трансмиссии, иммунитета и данные по изучению филогении, генетическому секвенированию и рекомбинаций между поксвирусами, а также мер борьбы.

В диссертации соискатель ссылается на автора и источник заимствования материала.

В разделе «Материалы и методы» автор описывает методологические особенности решения поставленных задач, а в разделе «Результаты собственных исследований» представлены полученные результаты по разработке комплекса методов, изучения филогенетических особенностей изолятов вируса ЗУД КРС на основе секвенирования по Сангеру. Отдельными главами представлен полногеномный анализ, рекомбинационный анализ и энтомологические исследования.

В разделе «Заключение» кратко обобщаются результаты работы, формулируются выводы и практические предложения.

Выводы и практические предложения диссертации логически вытекают из результатов проведенных исследований и находятся в соответствии с изложенным фактическим материалом. Материалы, изложенные в диссертационной работе, подтверждают, что автор справился с поставленными задачами.

Степень достоверности и апробации результатов. Диссертационная работа Спрыгина А.В. выполнена в ФГБУ «ВНИИЗЖ» с использованием

арсенала современных молекулярно-биологических средств и большого объема биологического материала. Степень достоверности результатов проведенных экспериментов подтверждена комиссионными испытаниями и статистической верификацией.

Результаты выполненной работы обсуждены в рамках международных встреч по проблеме ЗУД КРС: ежегодных заседаниях постоянной группы экспертов по ЗУД КРС под эгидой МЭБ GF-TADs (г. Охрид, Македония, 2018 г.; г. Афины, Греция, 2019 г.); в рамках ежегодных совещаний научного консорциума DEFEND по борьбе с ЗУД КРС в странах Европы (г. Мехелен, Бельгия, 2019 г.). Результаты научных исследований доложены на заседаниях ученого совета ФГБУ «ВНИИЗЖ» и опубликованы в материалах международных рецензируемых журналов и научных конференций (Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе, Кострома, 2019; 12th Annual Meeting EPIZONE, Vienna, 2018; «13th Annual Meeting EPIZONE, Berlin, 2019).

Результаты диссертационных исследований опубликованы в 20 научных работах, из них 5 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 11 – в международных рецензируемых журналах Scopus и Web of Science, 4 – в материалах международных конференций.

В работе все утверждения и высказывания имеют соответствующие ссылки на источники российской и международной научной литературы.

Таким образом, представленная работа вносит вклад в решение проблемы диагностики ЗУД КРС, имеет неоспоримую научную и практическую значимость.

Вышеупомянутые достоинства, включая актуальность затронутой проблемы, высокий методический уровень научных исследований, а также значимость результатов для ветеринарной отрасли позволяет дать работе весьма положительную оценку, представляющее собой целостное исследование.

Однако, в ходе оппонирования диссертационной работы у меня возникли вопросы:

1. На странице 109 указано, что «разработана и запатентована отечественная скрининговая тест-система ПЦР-РВ «КАПРИПОКС» для выявления генома каприпоксвирусов (вирус ЗУД КРС, вирус оспы овец, вирус оспы коз), позволяющая проводить диагностические скрининговые исследования на наличие генома каприпоксвирусов в биоматериале от КРС, МРС и диких жвачных», при этом «при исследовании 552 проб от диких

жвачных, геном каприпоксвирусов не выявлен». Неясно, из каких данных автор делает вывод о возможности использования данной тест-системы для исследования образцов от диких жвачных животных.

2. На странице 111 указано, что «показана возможность расширенного использования разработанной тест-системы «КАПРИПОКС» для выявления генома вируса в молоке как неинвазивного способа исследования статуса индивидуального животного». При в исследовании оценивали не молоко от зараженных животных, а пробы молока, искусственно инокулированные вирусом ЗУД КРС. Однако для такого утверждения необходимы данные о способности тест-системы выявлять возбудитель в молоке инфицированных животных.

3. На странице 127 в таблице 16 в столбике «Результаты «ПЦР ЗУД скрининг» отсутствует результат для варианта «ИРТ-1».

4. На странице 128 указано, что «из таблицы 16 видно, что тестирование на референтных штаммах и изолятах показало, что тест-система «ПЦР ЗУД вак» специфично выявляет только вакцинные штаммы», однако при оценке специфичности был использован только один вакцинный штамм, что не является достаточным для того, чтобы сделать подобный вывод.

Указанные недостатки и неточности не носят принципиального характера и не отражаются на общей положительной оценке работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

В заключении отзыва хотелось бы отметить, что диссертация Спрыгина А.В. «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена важнейшая для вирусологии, а также для ветеринарной отрасли проблема диагностики ЗУД КРС и поиска потенциальных переносчиков в российской энтомофауне. Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, свидетельствует о личном вкладе автора диссертации в науку.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, объему выполненных исследований и

оформлению диссертационная работа «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 «Вирусология» отвечает требованиям раздела II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Спрыгин А.В., заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук

Заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел. +7 (499)193 30 01

E-mail: mshmarov@yahoo.com

06.12.2021 г.

Шмаров Максим Михайлович

Подпись М.М. Шмарова заверяю:

Заместитель директора по научной работе

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России,

доктор биологических наук, профессор

Пронин Александр Васильевич

